

CS-1170 の一般薬理作用

小林晋作・上岡利春・熊倉清次
岩田宜芳・小池博之・高木 弘
三共株式会社中央研究所

序 言

CS-1170は三共株式会社の研究陣により開発された cephamycin 系に属する新規抗生物質であり、以下のような細菌学的特長¹⁾を有している。

(1) 耐性大腸菌を含む β -lactamase 産生菌に対しても強い抗菌力を有している。

(2) グラム陽性および陰性菌に対して優れた抗菌力を有しており、特にグラム陰性菌には従来のセファロsporin系薬剤よりさらに強力な抗菌力を有する。

(3) 従来のセファロsporin系、ペニシリン系薬剤が無効な indole (+) *Proteus*, *Serratia* にも強い抗菌力を有する。

著者らは、このCS-1170の急性の副作用を予知する目的で、中枢神経系、呼吸および循環器系、自律神経系、平滑筋、骨格筋、泌尿器系、血液およびその他に及ぼす影響などの一般薬理作用について検討したので報告する。

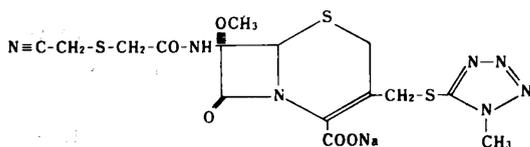
I. 実験材料

動物：DDY系マウス、WISTAR系、WISTAR-IMAMICHI系、SPRAGUE-DAWLEY系またはFISCHER系ラット、HARTLEY系モルモット、日本白色種ウサギ、雑種猫および自繁ビーグル犬または雑種犬を用いた。

薬物：CS-1170 (sodium (6 R, 7 S) - 7 - (2 - (cyanomethylthio) acetamido) - 7 - methoxy - 3 - (((1 - methyl - 1H - tetrazol - 5 - yl) thio) methyl) - 8 - oxo - 5 - thio - 1 - azabicyclo [4. 2. 0] oct - 2 - ene - 2 - carboxylate, 三共)は原則として注射用蒸留水に25%の濃度で溶解した液(25%溶液と以後記す)か、またはこの溶液を生理食塩液で希釈した液を投与した。また一部の実験では対照薬としてCefazolin sodium (CEZ, 藤沢薬品)を同様にして用いた。対照群には生理食塩液を投与した。

CS-1170の構造式をFig. 1に示す。

Fig. 1 Structure of CS-1170



II. 実験方法

1. 中枢神経系に及ぼす影響

1) 一般行動に及ぼす影響

1.1) マウスの行動に及ぼす影響

体重20~26gのDDY系雄マウスを1群5匹用いた。動物を金属製観察用ケージに入れ、約3時間静置させた後、CS-1170を静脈内投与した。その直後より4時間にわたりIrwin²⁾の行動観察表により行動を観察した。

1.2) 犬の行動に及ぼす影響

自繁ビーグル犬(体重6.0~10kg)を各用量当り雌雄各1頭ずつ用いた。2週間の予備飼育をした後に実験に供した。CS-1170の25%溶液を前肢静脈より5ml/分の速度で投与し、直後より4週間にわたって、一般症状を観察した。

2) 自発運動に及ぼす影響

体重23~28gのDDY系雄マウスを1群40匹用いた。CS-1170を静脈内投与後に動物5匹を1群として透明なプラスチックケージ(20×30×13cm)に入れ、60分間の自発運動量をElectronic Motility Meter FC 40(Motron社製)を用いて測定した。各用量について8回の実験を行なった。

3) Thiopental麻酔に及ぼす影響

体重23~28gのDDY系雄マウスを1群5匹用いた。CS-1170の静脈内投与10分後にThiopental sodium 30mg/kgを静脈内投与し、麻酔時間を正向反射の消失を指標として測定した。

4) 抗痙れん作用

体重23~30gのDDY系雄マウスを1群5匹用いた。CS-1170を静脈内投与10分後に、動物の両角膜間に1000V, 12.5mA, 0.25秒の電撃またはBemegrade 40mg/kgの皮下投与により痙れんを惹起させ、痙れん発現率および痙れん死亡率を測定した。

5) 条件回避反応に及ぼす影響

体重220~270gのWISTAR系雄ラットを1群5匹用いた。Shuttle boxでは音(8000Hz), Skinner boxでは光(3W)を条件刺激とし、無条件刺激はいずれの装置でも電撃(150V, 0.5mA)とした。条件刺激提示後5秒間以内に回避反応がない場合に無条件刺激を与えた。2

日間の訓練で70%以上の条件回避反応率を示した動物のみにCS-1170を皮下投与した。投与後30および180分に20試行または60分間の条件回避反応率を測定した。

6) 脳波と行動に及ぼす影響

6.1) 無麻酔ラットの脳波および行動に及ぼす影響

体重300~400gのWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを用いた。Pentobarbital麻酔下にWOOLSEY⁹⁾の脳地図に従い左側運動野(L-Cm), 左側視覚第1野(L-CVI)および右側視覚第1野(R-CVI)にそれぞれ銀球皮質電極を植え込み脳波誘導用とし, また頸部板状筋ならびに胸部に各1対の釣針型電極を植え込み筋電図ならびに心電図誘導用とした。

また薬物を脳室内に投与した際の影響を調べるために, FIFKOVA⁹⁾の脳地図に従い, 外径0.3mmの注射針を右側脳室内に刺入した。

手術後1週間以上経過した後, 脳波, 筋電図, 心電図ならびに行動の観察を行なった。脳波記録は日本光電9素子脳波計, 行動観察は日立電子製SV512VTRシステムによって行なった。

静脈内投与はあらかじめ総頸静脈内に挿入したカニューレより0.5~1.0ml/分の速度でCS-1170の25%溶液を投与し, 側脳室内へはCS-1170およびCEZを投与液量が1μl/bodyとなるように注射用蒸留水で溶解して投与した。

6.2) 無麻酔, 無拘束猫の脳波および行動に及ぼす影響

体重2.5~3.5kgの成熟雑種猫を雌雄の別なく用いた。Pentobarbital麻酔下に1対の銀球電極をWOOLSEY⁹⁾およびREIGARD & JENNINGS⁹⁾の脳地図に従い大脳皮質体性感覚第1野(CS-1)に, また同芯型双極電極をJASPER & AJMANE-MARSAN⁹⁾の脳地図に従い扁桃核ならびに海馬に植え込んだ。手術後1週間以上経過した後, ラットの場合と同様に脳波および行動を同時に観察記録した。CS-1170およびCEZは25%溶液をあらかじめ前肢静脈内に挿入しておいたカニューレを通して0.5~1.0ml/分の速度で投与した。

6.3) 急性無麻酔下位離断猫の脳波に及ぼす影響

体重2.5~3.5kgの成熟雑種猫を雌雄の別なく用いた。Ether麻酔下に脊髄をC₁のレベルで切断し, その直後にEther麻酔を停止し, Gallamineで不動化し, 人工呼吸下に同芯型脳波電極を海馬, 扁桃核, 視床非特殊中継核に刺入, 双極銀球電極を運動野, 体性感覚第1野および前外シルビウス回に設置した。脳波記録はEther麻酔停止後少なくとも2時間以上経過してから開始した。CS-1170およびCEZは25%溶液をあらかじめ右側股静脈内に挿入したカニューレを通して0.5~1.0ml/分の速度

で投与した。

7) 脊髄反射に及ぼす影響

体重2.8~4.0kgの成熟雑種猫を雌雄の別なく用いた。Ether麻酔下にT₁₃とL₁の間で脊髄を切断した後, L₁からS₂まで脊髄を露出し, 右側L₅-S₁の前根を切断し, 木綿糸で結紮した後双極白金電極上にL₇またはS₁前根を固定した。また2対のカラー型電極をそれぞれ同側座骨神経または脛骨神経および伏在神経に装置し, 電子管刺激装置(日本光電, MSE-40)で0.1m secの矩形波パルス(超最大刺激)を0.3Hzの頻度で与え, 単および多シナプス反射をおのおの上記前根からカソードフォロワーを通して陰極線オシロスコープ上に揚引, 記録した。反射電位の記録はEther麻酔停止後Gallamine(20mg/body)で不動化, 人工呼吸開始3時間以上経ってから行なった。CS-1170およびCEZは25%溶液を左股静脈より投与した。

8) 筋弛緩作用

体重23~30gのDDY系雄マウスを1群5匹用いた。30cmの高さに水平に張った直径1mmの針金を動物を前肢で把握懸垂させ, 20秒以上懸垂できた動物のみを用いた。CS-1170静脈内投与後5, 15, 30, 60, 90および120分に同様に懸垂させ, 20秒以内に落下したものを筋弛緩作用ありと判定した。

9) 鎮痛作用

体重23~30gのDDY系雄マウスを1群5匹用いて, 酢酸writhing法により試験した。CS-1170を静脈内投与直後に0.6%酢酸0.2ml/bodyを腹腔内注射し, 5分後から10分間のwrithingの回数を測定した。対照群のwrithing数に対する抑制率を求めた。

10) 体温に及ぼす影響

体重200~270gのWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを1群5匹用いた。CS-1170の皮下投与前に15分間隔で2回, 投与後30, 60, 120, 240および360分に直腸温を電子体温計(仁丹テルモ)にて測定した。

2. 呼吸, 循環器系および自律神経系に及ぼす影響

1) 呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図, 頸動脈血流, 股動脈血流, および冠血流に及ぼす影響

体重8~10kgのビーグル犬および雑種成犬を雌雄の別なく用いた。Pentobarbital sodium 30mg/kgの静脈内注射により麻酔し, 背位に固定した。呼吸は気管内に挿入したカニューレより呼吸流量計トランスジューサー(日本光電, MFP-1)を介し, 血圧は左股動脈内に挿入したカニューレより血圧トランスジューサー(日本光電, MPU-0.5)を介し, 心拍数は動脈液によってタコメーター(日本光電, RT-2)を駆動させ, 右頸動脈および右股動脈血流は非観血型電磁血流計(日本光電, MF26)に

より、それぞれ測定し、ポリグラフ(日本光電, PM-150)上に同時記録した。心電図は AB 誘導法により、ABL-I を心電計(福田エレクトロ, 100DH)により記録した。冠血流は Pentobarbital 麻酔後に人工呼吸下に開胸し、MORAWITZ のカニューレを冠静脈洞に装着し、体外に導出される冠静脈血流を前記血流計にて測定した。薬物を大槽内投与した際の影響を調べる実験では Pentobarbital 麻酔後腹位に固定し、大部分は Gallamine 投与後に人工呼吸をしながら、血圧および心拍数を前記の方法で測定した。

CS-1170 は 25% 溶液を 6 ml/分 の速度で静脈内に投与した。大槽内投与は第 2 頸椎上半分を取り除き、クモ膜を露出し、クモ膜下腔中枢方向に挿入した 1/5 静注針を通して行なった。CS-1170 は 25% 溶液もしくは生理食塩液で希釈した液を 37°C に温めた後、0.5 ml を 100 秒間で注入した。

2) Norepinephrine, Acetylcholine, Histamine, 頸動脈閉塞または頸部交感神経刺激による血圧反応または瞬膜収縮に及ぼす影響

体重 2.5~3.5 kg の雑種成猫を雌雄の別なく用いた。 α -Chloralose 50 mg/kg および Urethane 500 mg/kg の腹腔内注射により麻酔し、背位に固定後、1) と同様の方法により血圧と心拍数を測定した。瞬膜の緊張度は瞬膜をセルフインでつまみ、ひずみトランスジューサー(日本光電, SB-1T)を介して測定記録した。両側総頸動脈は 1 分間閉塞し、Norepinephrine, Acetylcholine, Histamine はそれぞれ 1 μ g/kg を静脈内注射した。頸部交感神経は節前線維を 5 V, 1 m sec, 10 Hz の矩形波で 10 秒間刺激した。CS-1170 は 25% 溶液を 6 ml/分 の速度で静脈内投与し、前記各刺激は CS-1170 投与 10~30 分後に行なった。

3) 摘出心房の運動に及ぼす影響

体重 500 g 前後の HARTLEY 系雌モルモットを用いた。頭部強打による致死、放血後直ちに心房を摘出した。摘出した心房は 38°C に保温し、酸素 95%、炭酸ガス 5% の混合ガスを飽和させ、通常の 2 倍量の Glucose を含むタイロッド液中に懸垂した。その運動はひずみトランスジューサーを介してペン書オシログラフ上に記録した。CS-1170 は累積的に bath 内に注入した。

3. 平滑筋に及ぼす影響

1) 生体位平滑筋の自動運動に及ぼす影響

体重 2.5~3.0 kg の日本白色種ウサギを用いた。胃運動はあらかじめ胃幽門部筋層内に植え込んだバルーンより低圧トランスジューサー(日本光電, LPU-0.1)を介し、回腸および子宮の運動は TRENDLENBURG 法⁷⁾によりそれぞれ Urethane 麻酔下に下腹部を切開し、各器官を糸

で懸垂し、ひずみトランスジューサーを介し、オシログラフ上に記録した。胃運動は非麻酔下に測定し、妊娠ウサギは妊娠 2 週後の動物を、非妊娠ウサギには実験日前 2 日間 Estradiol benzoate 100 μ g/kg を腹腔内に投与した後に用いた。

2) 摘出平滑筋の運動に及ぼす影響

回腸標本は日本白色種ウサギより、気管筋標本は HARTLEY 系雌モルモットより、精のう、妊娠および非妊娠子宮は WISTAR-IMAMICHI 系ラットより摘出した。妊娠子宮は妊娠後期の動物より、非妊娠子宮は実験日前 2 日間 Estradiol benzoate 100 μ g/kg を腹腔内に投与した動物より摘出した。各標本は 38°C に保温し、酸素 95%、炭酸ガス 5% の混合ガスを通気させたタイロッド液中に懸垂し、その張力はひずみトランスジューサーを介してペン書オシログラフ上に記録した。CS-1170 は累積的に投与した。

3) 妊娠子宮に対する Oxytocin の作用に及ぼす影響

体重 250 g 前後の妊娠後期の WISTAR-IMAMICHI 系ラットより子宮標本を摘出した。運動の測定方法は 2) と同様であった。あらかじめ Oxytocin 10⁻⁸ u/ml による収縮反応を確かめた後に洗浄し、CS-1170 添加 5 分後に再び Oxytocin を注入して収縮反応を測定した。

4) 鎮痙作用

WISTAR-IMAMICHI 系ラットより摘出した精のう標本において、Epinephrine (10⁻⁵ g/ml) に対する拮抗を、HARTLEY 系雌モルモットより摘出した回腸標本において Acetylcholine (10⁻⁷ g/ml), Histamine (10⁻⁷), Serotonin (10⁻⁸) および Nicotine (10⁻⁸) に対する拮抗を試験した。いずれも収縮薬の単独での反応を測定した後に洗浄し、CS-1170 を添加した後に再び収縮薬を注入して収縮反応を測定した。測定方法は 2) と同様であった。

4. 消化器系に及ぼす影響

1) 胃液分泌に及ぼす影響

体重 150 g 前後の FISCHER 系雄ラットを 1 群 5 匹用い、SHAY ラット法⁸⁾により試験した。すなわち、48 時間絶食後(この間水は自由に摂取させた)Ether 麻酔下に開腹し、幽門輪部を結紮し再び閉腹した。4 時間後に再び Ether による深麻酔で致死させ、胃液を採取して量を測定した。CS-1170 は幽門輪部結紮直後に静脈内投与した。

2) 腸管内輸送能に及ぼす影響

体重 25 g 前後の DDY 系雄マウスを 1 群 10 匹用いた。50% (W/W) BaSO₄ 液 0.2 ml を経口投与し、20 分後に動物を殺して、全小腸管の長さに対する BaSO₄ の輸送された割合を測定した。CS-1170 は BaSO₄ 投与直前に静脈内投与した。

3) 排便時間に及ぼす影響

体重30g前後のDDY系雄マウスを1群10匹用いた。50%(W/W)BaSO₄液0.2mlを経口投与し、白色糞の排便されるまでの時間を測定した。CS-1170はBaSO₄投与直前に静脈内投与した。

5. 泌尿器系に及ぼす影響

1) 尿量および電解質排泄に及ぼす影響

体重210±10gのWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを1群9匹用いた。実験前18時間絶食させ、水のみ自由に摂取させた。薬物投与後、ラット用採尿ケージに1群3匹ずつ入れ、0～6の各時間および24時間後の排泄尿量を測定した。尿中電解質は0～6および6～24時間尿をそれぞれプールして、Na⁺、K⁺は炎光光度計(Corning・EEL, 430型)、Cl⁻はクロライドメーター(Corning EEL, 920型)にて測定した。尿浸透圧は浸透圧計(Precision System, OSMETTE A)で測定した。CS-1170およびCEZは生理食塩液中に溶解させたものを、0.8ml/100gの割合で静脈内投与した。また、その直後に生理食塩液2.5ml/100gを経口的に負荷投与した。

2) Furosemideの塩利尿作用に及ぼす影響

経口負荷した生理食塩液中にFurosemide 100mg/kgを含有させた以外は1)と全く同じ方法で試験した。

6. 横隔膜神経筋標本に及ぼす影響

体重200～300gのSPRAGUE-DAWLEY系雄ラットを用い、BULBRING⁹⁾の方法により実験した。断頭、放血して致死せしめた後、横隔膜神経筋標本を摘出し、38℃に保ち、酸素95%、炭酸ガス5%の混合ガスを通気させたタイロッド液中に懸垂した。Initial tensionを1g(または2g)とし、筋の張力をひずみトランスジューサーを介して等長的にインク書オシログラフ上に記録した。神経刺激は5V(または10V)、0.1(または0.5)msec持続の矩形波により10秒ごとに行なった。CS-1170は累積的に投与した。

7. 鎮咳作用

体重300g前後のHARTLEY系雌モルモットを1群5匹用いた。Pentobarbital sodium 15mg/kgの腹腔内注射により軽度麻酔し、背位に固定した後気管を露出させた。鎖骨より1.5cmの距離の気管の前面に小孔を開け、ここから刺激用の豚毛を約30度傾けて3cm挿入し、1秒後に引き出した。この刺激により確実に発咳する動物のみにCS-1170を静脈内投与した。投与後30, 60, 90および120分に2回ずつ刺激を行ない、2回とも発咳のなかった場合鎮咳作用ありと判定した。

8. Carrageenin浮腫に及ぼす影響

体重150g前後のWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを1群5匹用いた。Carrageeninの1%懸濁液0.05ml/ラットを足蹠裏に皮下注射して浮腫を惹起させた。Carra-

geenin注射前および3時間後に足蹠の体積をWINDER¹⁰⁾の方法で測定し、その差を浮腫強度とした。CS-1170はCarrageenin注射直前に静脈内投与した。

9. 血糖値に及ぼす影響

体重8～9kgのビーグル犬雄各2頭を1群として用いた。採血はCS-1170投与直前、および投与後1, 2, 4および24時間目に前肢静脈より行なった。動物はCS-1170投与前24時間と投与後4時間絶食させ、投与後4時間目の採血が終わった直後に餌を与え、再び24時間後の採血時迄絶食させた。血糖はGlucose-oxidase-catalase法¹¹⁾によりオートアナライザーを用いて測定した。CS-1170は25%溶液を静脈内投与した。

10. 血液に及ぼす影響

1) 溶血作用

体重約200gのWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを用いた。Ether麻酔下にHeparin加血液を心臓より採取し、リン酸緩衝液加生理食塩液で2回洗浄し、血球の容量が30%となるような赤血球浮遊液を調製した。この血液浮遊液0.2mlにCS-1170を含む上記生理食塩液1.8mlを加え、CS-1170の濃度が10%となるようにした。37℃で30分間インキュベーション後遠心分離し、上澄液のO.D.を540m μ の波長により、分光光度計(日立124型)で測定し、溶血率を算出した。

2) 血液凝固に及ぼす影響

体重250g前後のWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを1群5匹用いた。CS-1170の静脈内投与1時間後にEther麻酔下に3.8% Sodium citrate加(血液に対する比:1/10)血液を心臓より採取し、500g 10分間遠心分離し、血漿を得た。プロトロンビン時間は37℃に温めておいたThromboplastin液0.2mlと血漿0.1mlを混和し、Fibrometer(BBL)を用いて凝固時間を測定した。活性化部分トロンボプラスチン時間は、血漿0.1mlとPlatelin[®] plus activator(WARNER LAMBERT)0.1mlとを混和し、37℃で3～5分間加混し、これに0.02M CaCl₂ 0.1mlを加えてFibrometerで凝固時間を測定した。

3) 血小板凝集に及ぼす影響

体重250g前後のWISTAR-IMAMICHI系雄ラットを用いた。Chloroform麻酔下に心臓より3.8% Sodium citrate加(1/10量)血液を採取し、1000cpmで15分間遠心分離して上清より多血小板血漿を得た。多血小板血漿にCS-1170を10⁻⁶～10⁻⁸g/mlの濃度になるように添加し、2分後にADP(最終濃度2.25 μ g/ml)を加え、血小板凝集度を吸光度の減少(O.D. 600m μ)によりAggregometer(BRYSTON)で測定した。

11. 局所麻酔作用

体重300g前後のHARTLEY系雌モルモットを1群5

匹使用し、角膜刺激法で試験した。検液投与前に片方の眼の中心部および周囲四カ所(合計5カ所)の角膜に1/3注射針のマンドリンを垂直に当て一定の強さの刺激を与えて確実に角膜反射(瞬目反応)を示す動物のみを用いた。CS-1170は注射用蒸留水で3, 10および25%の濃度に溶解し、1/3注射針で0.1mlを眼結膜のうに滴下した。5, 10, 20および30分後に5カ所の角膜刺激を行ない、3カ所以上角膜反射が消失した場合を局所麻酔作用ありと判定した。

III. 実験成績

1. 中枢神経系に及ぼす影響

(1) 一般行動に及ぼす影響

1.1) マウスの行動に及ぼす影響

CS-1170の100mg/kg 静脈内投与後には行動変化は全く認められなかった。300, 1000および2000mg/kg 投与後には30~60分以内に体に触れた時の逃避行動または身構い様行動のわずかな増加が認められたのみであった。したがって、CS-1170の100~2000mg/kgの投与により、上記以外の姿勢、体壁の弾力性、眼瞼反射、握力、回転棒への順応性、正位反射、食餌行動、歩行、傾斜板への順応性、呼吸、瞳孔の大きさ、光線からの逃避反応、音による驚愕反応に影響を与えず、またカタレプシー、痺れん、振せん、拳尾、眼瞼下垂、眼球突出、立毛、チアノーゼ、流涙および流涎も認められなかった。

1.2) 犬の行動に及ぼす影響

CS-1170の100, 200および400mg/kg 静脈内投与群は全例一般症状の変化を示さなかった。800mg/kg 投与群では雌雄ともに投与直後に、1600mg/kg 投与群では雄は40ml (1000mg/kg) 雌は35ml (875mg/kg) 注入時に軽度の吐気を示したが、いずれの例も嘔吐はしなかった。また吐気を示した例を含む全例ともに摂餌量に変化はなかった。

2) 自発運動に及ぼす影響

Table 1に示されるように、CS-1170は100, 300, 1000および2000mg/kgの静脈内投与により、マウスの自発運動量に有意な影響を及ぼさなかった。

3) Thiopental 麻酔に及ぼす影響

Table 2に示されるように、CS-1170の100, 300および1000mg/kg 静脈内投与では、マウスにおけるThiopental 麻酔時間に有意な影響を及ぼさなかったが、2000mg/kgでは軽度ながら有意な延長を示した。

4) 抗痺れん作用

CS-1170の100, 300, 1000および2000mg/kgの静脈内投与により、マウスにおける電撃痺れんおよびBemegride 痺れんに対して抗痺れん作用および痺れん死の増強作用を示さなかった。

Table 1 Influence of CS-1170 on the spontaneous locomotor activity in mice.

Dose(mg/kg, i.v.)	Locomotor activity(count)
Control	1869 ± 205
100	1742 ± 150
300	1894 ± 143
1000	2075 ± 123
2000	1772 ± 167

Mean ± S.E. of 8 determinations for 60 min starting from 30 min after drug administration.

Table 2 Influence of CS-1170 on the thiopental anesthesia in mice.

Dose(mg/kg, i.v.)	Duration of anesthesia(sec)
Control	193 ± 27
100	214 ± 14
300	215 ± 15
1000	230 ± 37
2000	385 ± 27*

Mean ± S.E. of 5 mice.

*: Significant difference from control ($p < 0.05$)

5) 条件回避反応に及ぼす影響

CS-1170の300, 1000および2000mg/kgの皮下投与により、ラットにおける音または光を条件刺激としたShuttle BoxまたはSkinner Box法において、条件回避反応に影響を及ぼさなかった。

6) 脳波および行動に及ぼす影響

6.1) 無麻酔、無拘束ラットの脳波および行動に及ぼす影響

CS-1170の50, 100, 300, 600および1000mg/kgの静脈内投与では、覚醒時間、徐波睡眠相の出現開始時間、脳波パターンおよび行動は対照群と差がなかった (Fig. 2)。

CS-1170の右側脳室内投与では、10%溶液1 μ l (100 μ g)ではなんら変化はなかったが、25%以上の溶液1 μ l (250 μ g以上)の投与で高振幅脳波を伴う頭あるいは左側前または後肢のれん縮、脳波のseizure dischargeと同期した間代性痺れんなどが観察された (Table 3)。これらの反応は投与5~15分後に発現し、ほぼ30分以内に最大に達し以後時間の経過とともに回復した。

CEZは1%, 1 μ l (10 μ g)の側脳室内投与では変化はなかったが2.5%, 1 μ l (25 μ g)以上では用量依存的に (Table 3)前述の異常脳波および行動を起こした。CEZ投与時のほうが発現が早く、かつ長時間持続した。

Fig. 2 Influence of CS-1170 administered intravenously on the EEG of an unanesthetized rat with chronically implanted electrodes.

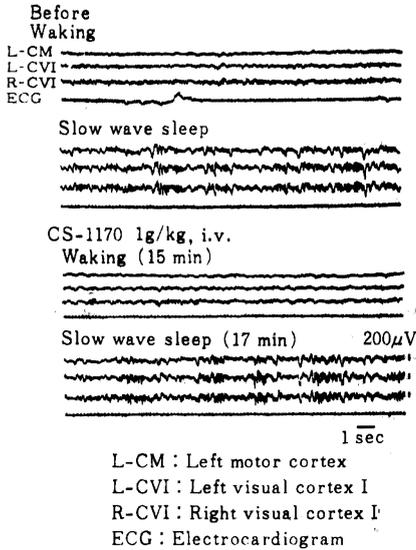


Table 3 Influence of CS-1170 and cefazolin sodium administered into the right lateral ventricle on the EEG and behavior in unanesthetized rats with chronically implanted electrodes.

Abnormal EEG and behavior	Dose (μg)					
	CS-1170			CEZ		
No change	5	7	1	5	3	
EEG only	3	1	2			
EEG and behavior	2	5		3	5	

Figures show the number of animals.

6.2) 無麻酔、無拘束猫の脳波および行動に及ぼす影響

CS-1170の600mg/kg 静脈内投与では、脳波および行動に変化は認められなかった(2例)。800mg/kg では3例中1例に間代性痙れんを伴う seizure dischargeが見られた。CEZの600mg/kg 投与例では嘔吐のくり返し、大脳皮質体性感覚第1野の高振幅波、spike and waveから海馬に及ぶ seizure dischargeに発展し、この時期に一致して激しい間代性痙れんが見られた。その後痙れんと異常脳波をくり返して死亡した。CEZ 60mg/kg では異常は見られなかった。

Fig. 3 Influence of CS-1170 administered intravenously on the EEG of an "encéphale isolé" cat.

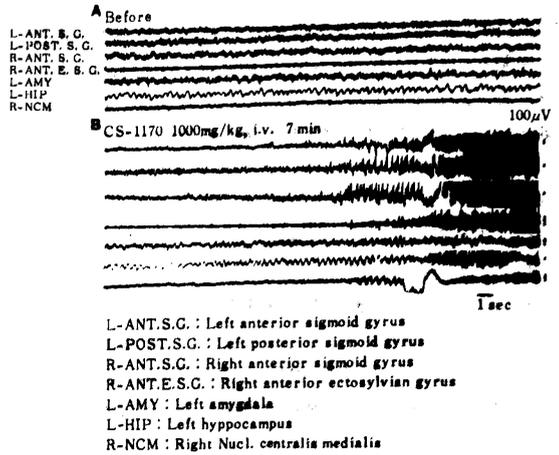


Table 4 Influence of CS-1170 and cefazolin sodium on the EEG of "encéphale isolé" cats.

Drug	No. of animals of seizure discharge/No. of animals treated						
	Dose (mg/kg, i.v.)						
	50	100	200	400	600	1000	1200
CS-1170	0/2	0/2		0/1	0/3	2/3	1/1
CEZ	0/2	3/3	2/2	2/2			

6.3) 急性無麻酔下位離断猫の脳波に及ぼす影響

CS-1170は Table 4 に示されるように、600mg/kg 以下の静脈内投与では脳波上に変化が認められなかった。1000mg/kg 以上では投与直後から新皮質では低振幅速波化、海馬では4~8 Hzの律動波が生じ、spike and waveおよびそれに続く seizure dischargeが記録した全領域に現われる例があった (Fig. 3)。

CEZ 投与群では100mg/kg 以上で全例に上記異常脳波が認められた (Table 4)。

CS-1170および CEZ 投与例で異常脳波が出現中は多くの例で一過性の血圧上昇が認められた。

CS-1170 1000mg/kg または CEZ 100mg/kg による seizure discharge 発現は、Benzodiazepine 系化合物である睡眠導入剤 CS-430¹²⁾10mg/kg の30分前経口投与により完全に抑制された。

7) 脊髄反射に及ぼす影響

CS-1170の1200mg/kg 静脈内投与により、猫における

単シナプス反射を、1000mg/kg 以上で多シナプス反射を軽度に進達させた。CEZは100mg/kg で同様の傾向を示した。

8) 筋弛緩作用

CS-1170の100, 300, 1000および2000mg/kg の静脈内投与でマウスにおいて筋弛緩作用を示さなかった。

9) 鎮痛作用

CS-1170の100, 300, 1000および2000mg/kg の静脈内投与により、マウスにおいて鎮痛作用を示さなかった。

10) 体温に及ぼす影響

CS-1170の300, 1000 および2000mg/kg の皮下投与でラットの体温に有意な影響を及ぼさなかった。

2. 呼吸、循環器系および自律神経系に及ぼす影響

1) 呼吸、血圧、心拍数、心電図、頸動脈血流、股動脈血流および冠血流に及ぼす影響

CS-1170の20, 50, 100および400mg/kg の麻酔犬における静脈内投与では、作用がなく、800および1200mg/kg で呼吸回数の一過性の軽度の増加、わずかな昇圧、心拍数の減少傾向、頸動脈、股動脈および冠血流の一過性の増大が認められたのみであった (Fig. 4, Table 5)。心電図はいずれの用量においても全く影響がなかった (Fig. 5)。

CS-1170の大槽内投与の1.25または3.75mg/0.5ml では麻酔犬の血圧、心拍数にほとんど影響を及ぼさなかった。12.5, 37.5または125mg/0.5ml の投与では、わずかな降圧もしくは昇圧に続くゆっくりとした昇圧、もしくは降圧のくり返しの見られる例があった。心拍数も血圧と並行して変動した。CEZの大槽内投与の影響はCS-1170と同様であった。

2) Norepinephrine, Acetylcholine, Histamine, 頸動脈閉塞または頸部交感神経刺激による血圧反応または瞬膜収縮に及ぼす影響

CS-1170の100, 400, 800および1200mg/kg の静脈内投与により、猫における Norepinephrine および頸動脈閉塞による昇圧反応、Acetylcholine および Histamine による降圧反応および頸部交感神経の節前線維の電気刺激による瞬膜収縮反応に有意な影響を及ぼさなかった。Fig. 6 に CS-1170 1200mg/kg 投与時の 1 例を示す。

3) 摘出心房の運動に及ぼす影響

CS-1170の 10^{-6} ~ 2.5×10^{-3} g/ml の濃度で摘出モルモット心房の収縮力および拍動数に影響を及ぼさなかった。

3. 平滑筋に及ぼす影響

1) 生体位平滑筋に及ぼす影響

CS-1170の100, 400, 800または1200mg/kg の静脈内投与により、ウサギの生体位胃、回腸、妊娠および非妊娠

子宮の自動運動に対して、有意な影響を及ぼさなかった。

2) 摘出平滑筋に及ぼす影響

CS-1170の 10^{-6} ~ 10^{-3} g/ml の濃度において、摘出ウサギ回腸、モルモット気管筋、ラット精のう、妊娠および非妊娠子宮の自動運動および緊張度、および摘出妊娠ラット子宮の Oxytocin による収縮反応に対して影響を及ぼさなかった。また 10^{-3} g/ml で抗 Acetylcholine, 抗

Fig. 4 Influence of CS-1170 administered intravenously on the respiration, blood pressure and heart rate in an anesthetized Beagle dog.

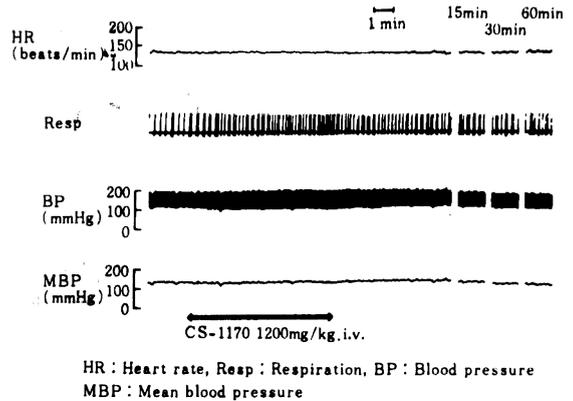
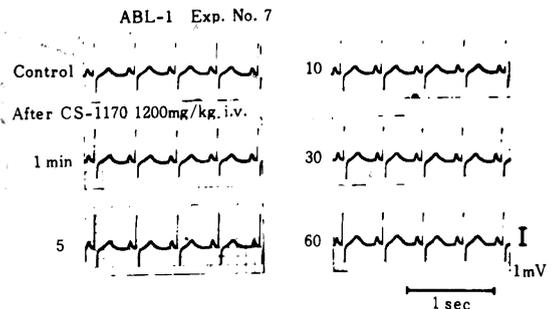


Table 5 Influence of CS-1170 on the carotid, femoral and coronary blood flow in anesthetized dogs.

Dose (mg/kg, i.v.)	Percent change of blood flow		
	Carotid	Femoral	Coronary
50	- 4.0	- 4.0	+14.7
100	- 4.0	- 4.0	
400	+ 4.0	+ 4.0	
800	+19.0	+21.8	
1200	+26.5	+13.5	+91.9

Mean of 4 - 5 experiments.

Fig. 5 Influence of CS-1170 administered intravenously, on the ECG in an anesthetized Beagle dog.



Histamine, 抗 Serotonin, 抗 Nicotine および抗 Adrenaline 作用を示さなかった。

4. 消化器系に及ぼす影響

CS-1170の100, 300, 1000および2000mg/kgの静脈内投与により, ラットにおける胃液分泌, マウスにおけるBaSO₄の小腸管内輸送速度および排便時間に有意な影響を及ぼさなかった。

5. 泌尿器系に及ぼす影響

ラットの尿量については, Fig. 7-aに示されるように, CS-1170の300mg/kg静脈内投与では対照群と有意差はなかったが, 1000および2000mg/kgでは用量依存的に尿量を有意に ($p < 0.05$) 増加させた。この作用は投与後6時間までが顕著で, 6時間以後の尿量は対照群と差がなかった。CEZの作用も同様であった。

尿中電解質排泄量については, Fig. 7-b-1に示される

Fig. 6 Influence of CS-1170 on the cardiovascular responses to physiological and pharmacological interventions and on the contraction of the nictitating membrane produced by electrical stimulation of the cervical sympathetic nerves in a cat.

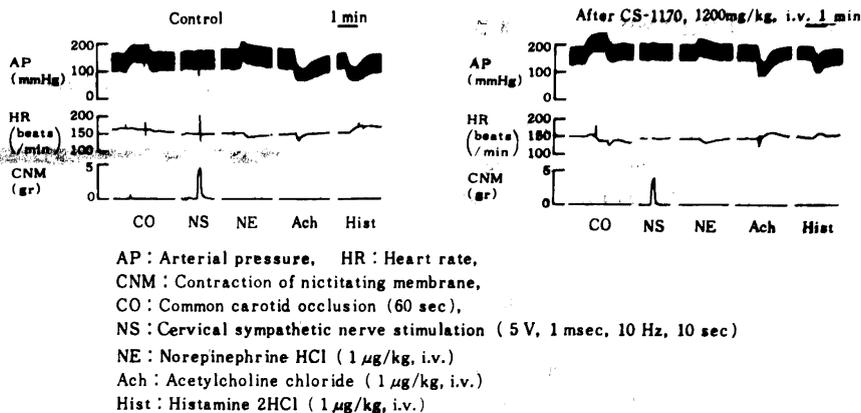
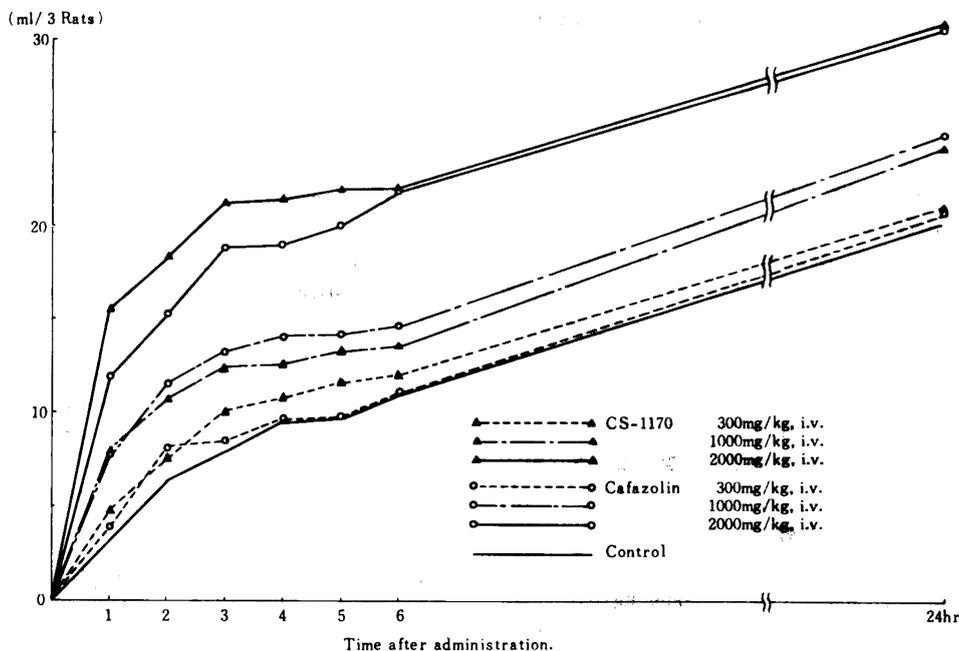


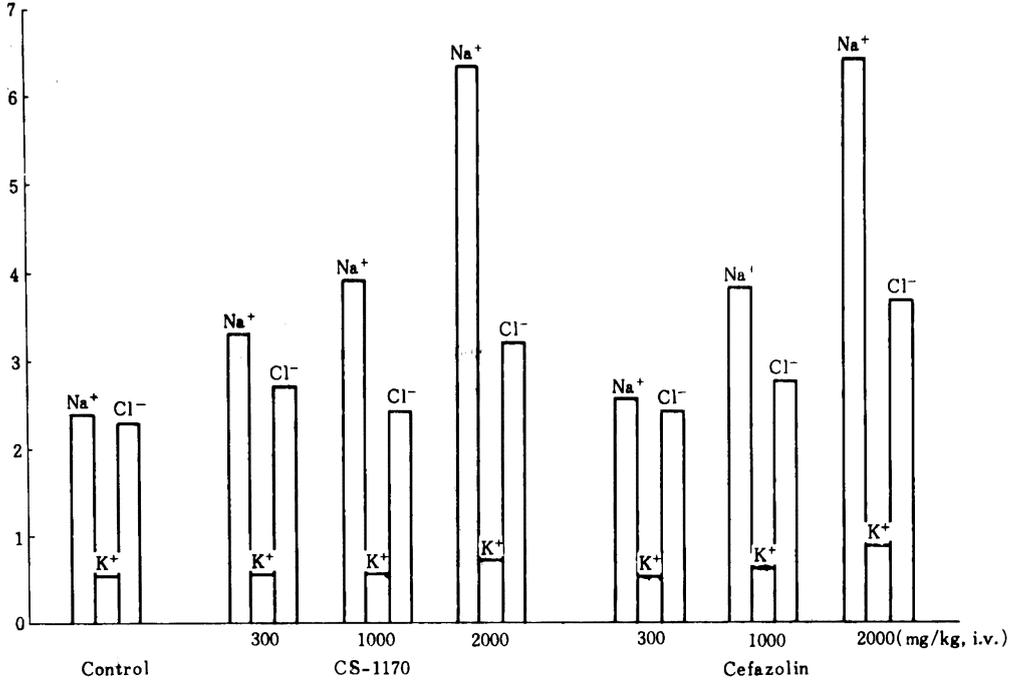
Fig. 7 Influence of CS-1170 and cefazolin sodium on the urinary volume and electrolytes in rats

7-a) Urine volume



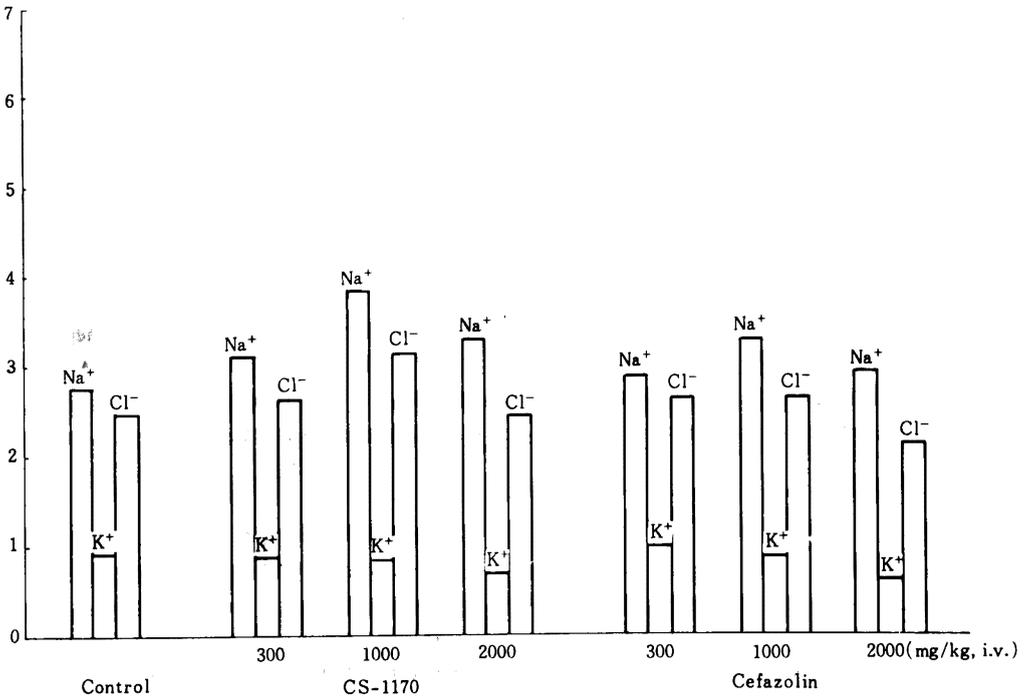
7-b-1) Electrolytes excretion (0 - 6 hr)

(mEq/ 3 Rats)



7-b-2) Electrolytes excretion (6 - 24hr)

(mEq/ 3 Rats)



ように CS-1170は300, 1000 および2000mg/kg で用量依存的に 0~6 時間尿で Na⁺を増加させた。K⁺および Cl⁻も若干増加したが Na⁺ほど顕著ではなかった。6~24時間尿については Fig. 7-b-2 に示したが, Na⁺が対照群に比べて若干増加したが, 有意ではなかった。K⁺および Cl⁻は変化がなかった。CEZ の作用も CS-1170 と同様であった。

浸透圧は CS-1170 投与群と対照群とでは顕著な差はなかった。

Furosemide によるラットにおける塩利尿作用に対して, CS-1170 の1000 および2000mg/kg の静脈内投与の併用により, 尿量および Na⁺ 排泄量を軽度増加させた。CEZ の作用も同様であった。

6. その他

CS-1170は10⁻³g/ml の濃度で摘出ラット横隔膜神経筋標本に対して, 2000mg/kg までの静脈内投与でラット Carrageenin 足腫浮腫に対して, 400mg/kg までの静脈内投与で犬の血糖値に対して, 2000mg/kg までの静脈内投与でラットにおける血液凝固に, また10⁻³g/ml の濃度で血小板凝集に対して有意な影響を及ぼさなかった。また2000mg/kg までの静脈内投与でモルモットにおいて鎮咳作用を示さず, 10% の濃度で溶血作用を示さず, 25% までの濃度で局所麻酔作用を示さなかった。

IV. 総括ならびに考察

CS-1170 の急性の副作用を知る目的で, マウス, ラット, モルモット, ウサギ, 猫および犬を用い一般薬理作用を試験した。

CS-1170 の投与量は原則として, 無作用量から明らかな作用の発現する量までとしたが, 最大投与量は投与量の関係から, マウス, ラット, モルモットでは2000mg/kg の静脈内または皮下投与とし, ウサギ, 猫, 犬では1200mg/kg 静脈内投与とした。また特殊の投与方法として, ラットの側脳室および犬の大槽内投与による実験も行なった。in vitro の実験では最高濃度を10⁻³g/ml またはそれ以上とした。一部の実験には対照薬として Cefazolin sodium (CEZ) を用いた。

1. CS-1170 はマウスにおける一般行動, 自動運動量に有意な影響を及ぼさずまた抗電撃および抗 Bemegride 痙れん作用, 筋弛緩作用および鎮痛作用を示さなかった。

2. CS-1170 は2000mg/kg 静脈内投与によりマウスにおいて軽度ながら有意の Thiopental 麻酔増強作用を示した。

3. CS-1170 はラットにおける音および光を条件刺激とした条件回避反応に影響を及ぼさなかった。このことは CS-1170 が学習行動に影響を及ぼさずまた聴覚, 視覚

に対しても影響を及ぼさないことを示唆している。

4. CS-1170 はラットの体温に影響を及ぼさなかった。

5. CS-1170 はラットにおいて1000mg/kg の静脈内投与では脳液および行動に全く影響を及ぼさなかった。CS-1170 の10% 溶液 1 μl (100 μg) の側脳室内投与ではなんら異常がなかったが, 25% 1 μl (250 μg) 以上の投与で脳液に seizure discharge, 行動上にれん縮および間代性痙れんが見られた。CEZ は1/10 の用量の25 μg より同様の異常脳液および行動を惹起した。

6. CS-1170 は猫において, 600mg/kg の静脈内投与では脳液および行動に異常は見られなかったが, 800~1000mg/kg 以上で seizure discharge を含む異常脳液および間代性痙れんを示した。CEZ は100mg/kg 以上で同様の作用を示した。なお CS-1170 および CEZ による seizure discharge の発現は Benzodiazepine 系睡眠導入剤の CS-430 により完全に抑制された。

7. CS-1170 のラット側脳室内投与および猫における静脈内投与による痙れん発現作用は CEZ の1/10 であることが示された。

8. CS-1170 は1200mg/kg 静脈内投与で猫における単シナプス反射を, 1000mg/kg 以上で多シナプス反射を軽度亢進させた。CEZ は100mg/kg で同様の傾向を示した。

9. CS-1170 は400mg/kg 以下の静脈内投与では犬の行動に影響を及ぼさなかった。800mg/kg 以上で軽度の吐気が見られたが嘔吐はなかった。

10. CS-1170 は800 および1200mg/kg の静脈内投与で麻酔犬において呼吸回数の一過性の軽度の増加, わずかの昇圧, 心拍数の減少傾向, 股動脈, 頸動脈および冠血流の一過性の増大が見られた。心電図には影響を及ぼさなかった。

11. CS-1170 の2.5% 溶液0.5ml (12.5mg) 以上の大槽内投与で麻酔犬の血圧, 心拍数に変動が見られた。CEZ も同様の作用を示した。

12. CS-1170 は麻酔猫における Norepinephrine, および頸動脈閉塞による昇圧反応, Histamine, Acetylcholine による降圧反応および頸部交感神経節前線維の電気刺激による瞬膜収縮反応に影響を及ぼさなかった。

13. CS-1170 は摘出モルモット心房の自動運動に影響を及ぼさなかった。

14. CS-1170 はウサギの生体位胃, 回腸, 非妊娠および妊娠子宮の自動運動に影響を及ぼさなかった。

15. CS-1170 は摘出ウサギ回腸, モルモット気管筋, ラット精のう, 非妊娠および妊娠子宮の自動運動および緊張度に対して影響を及ぼさなかった。

16. CS-1170は摘出ラット妊娠子宮のOxytocinによる収縮反応に対して影響を及ぼさなかった。
17. CS-1170は摘出ラット精のうまたはモルモット回腸において抗 Adrenaline, または抗 Acetylcholine, 抗 Histamine, 抗 Serotonin および抗 Nicotine 作用を示さなかった。
18. CS-1170はラットにおいて胃液分泌に有意な影響を及ぼさなかった。
19. CS-1170はマウスにおける小腸管内輸送能および排便時間に対して有意な影響を及ぼさなかった。
20. CS-1170は1000および2000mg/kgの静脈内投与によりラットにおける尿量およびNa⁺排泄量を有意に増加させた。CEZも同様の作用を示した。これはCS-1170が尿中に排泄されるのに伴い、Na⁺および尿量が増加したものと推察される。なお尿の浸透圧は対照群と差がなかった。
21. CS-1170は1000mg/kg以上の静脈内投与により、ラットにおけるFurosemideの塩利尿作用を若干増強した。これはCS-1170の作用とFurosemideの作用との相加作用と考えられる。CEZも同様な作用を示した。
22. CS-1170は摘出ラット横隔膜神経筋標本に影響を及ぼさなかった。
23. CS-1170はモルモットにおいて鎮咳作用を示さなかった。
24. CS-1170はラット足趾 Carrageenin 浮腫に影響を及ぼさなかった。
25. CS-1170は犬の血糖値に対して有意な影響を及ぼさなかった。
26. CS-1170はラットにおいて血液凝固に有意な影響を及ぼさなかった。
27. CS-1170はラットの採取した血液に対して溶血作用を示さなかった。
28. CS-1170はラットの採取した血小板に対して凝集作用を示さずまたADPによる凝集に対して影響を及ぼさなかった。
29. CS-1170はモルモット角膜において局所麻酔作用を示さなかった。
30. 上記のように、CS-1170は800~1000mg/kg以上の静脈内投与により、中枢神経興奮作用、軽度血圧上昇作用および尿量増加作用を示したのみであり、400mg/kg以下では中枢神経系、呼吸、循環器系、自律神経系、感覚器、平滑筋、消化器系、泌尿器系 血液などに対して影響を及ぼさなかった。したがって、CS-1170の静脈内投与における安全用量は400mg/kg以上と考えられる。

31. CS-1170の臨床1回常用量は500~1000mg/ヒト(ヒトの体重を50kgとすれば10~20mg/kg)静脈内投与とされているので、CS-1170の上記安全用量は20~40倍に相当し、CS-1170は臨床使用上きわめて安全性の高い薬剤であると考えられる。

文 献

- 1) 菅原眞一, 田島政三, 五十嵐勇, 宇津井幸男, 大屋哲, 中原正城: 新セファマイシン系抗生物質CS-1170の抗菌活性. *Chemotherapy* 26 (S-5): 81~98, 1978
- 2) IRWIN, S.: "Drug screening and evaluation of new compounds in animals" in *animal and clinical pharmacologic techniques in drug evaluation*. p. 36~54. Edited by NODINE J. H. and P. E. SIEGLER. Year Book Medical Publishers Inc., 1964.
- 3) WOOLSEY, C.N.: "Organization of somatic sensory and motor areas of the cerebral cortex" in *Biological and biochemical bases of behavior*. p. 63~81. Edited by HARLOW, H.F. & C.V. WOOLSEY. Madison, Wisconsin Univ. Press, 1958.
- 4) FIFKOVÁ, E. & J. MARSÁLA: "Stereotaxic atlases for the cat, rabbit and rat" in *Electrophysiological methods in biological research*. p. 653~731. Edited by BURĚS, J., M. PETGÁŇ & J. ZACHER. Academic Press, 1967.
- 5) REIGARD, J. & H.S. JENNINGS: *Anatomy of the cat*. HENRY HOLT and Company, 1957.
- 6) JASPER, H. & AJMANE-MARSAN: *A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat*. National Research Council of Canada, 1954.
- 7) TRENDELENBURG, P.: Eine neue Methode zur Resistrierung der Darmtätigkeit. *Z. Biol.*, 61: 67~72, 1913.
- 8) SHAY, H., S.A. KOMAROV, S.S. FELS, D. MERANCE, M. GRUEHSTEIN & H. SIPLER: A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology* 5: 43~61, 1945.
- 9) BÜLBRING, E.: The isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. *Brit. J. Pharmacol. Chemoth.* 1: 38~61, 1946.
- 10) WINDER, C.V.; J. WAX & M.A. BEEN: Rapid foot volume measurements on unanesthetized rats and the question of a phenylbutazone effect on anaphylactoid edema. *Arch. int. pharmacodyn.* 112: 174~187, 1957.
- 11) 茂手木皓喜, 正路喜代美: Glucose oxidase-Catalase法による血糖の自動分析法. *臨床病理* 16: 589~593, 1968
- 12) KAMIOKA, T.; I. NAKAYAMA, T. HARA & H. TAKAGI: Pharmacological studies of CS-430, a new psychotropic agent. *Arzneimittel-Forsch.* 28: 838~847, 1978.

GENERAL PHARMACOLOGY OF CS-1170

SHINSAKU KOBAYASHI, TOSHIHARU KAMIOKA, SEIJI KUMAKURA, NOBUYOSHI IWATA,
HIROYUKI KOIKE and HIROSHI TAKAGI

Department of Pharmacological Research, Central Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

General pharmacology of CS-1170, a new semisynthetic cephamycin antibiotic, was studied.

On the central nervous system, CS-1170 potentiated thiopental anesthesia in mice at an i. v. dose of 2000 mg/kg and caused seizure discharge in EEG, clonic convulsion and enhancement of spinal reflexes in cats at an i. v. dose of not less than 800 mg/kg. The convulsive effect of CS-1170 was one tenth as that of cefazolin sodium. CS-1170 gave no significant influence on gross behavior, locomotor activity, conditioned avoidance response and bodytemperature and showed no anti-convulsant, muscle relaxant and analgesic effects.

On the respiratory, cardiovascular and autonomic nervous systems, CS-1170 caused slight transient increase of respiratory rate, slight hypertension, slight decrease of heart rate and transient increase of femoral, carotid and coronary blood flow in anesthetized dogs at an i. v. dose of not less than 800 mg/kg. Blood pressure responses to carotid artery occlusion and biogenic amines and contraction of nictitating membrane induced by electrical stimulation of cervical sympathetic nerves in cats and movements of isolated guinea pig atria were not influenced by CS-1170.

Movements and tone of stomach, ileum, pregnant and nonpregnant uterus, seminal vesicle and tracheal muscle *in situ* and *in vitro* and oxytocin-induced contraction of isolated pregnant rat uterus were not influenced by CS-1170.

CS-1170 showed no spasmolytic effects against acetylcholine, histamine, serotonin, nicotine and adrenaline.

Gastric secretion in rats and intestinal propulsion and defecation time in mice were not influenced by CS-1170.

CS-1170 caused dose-dependent increase of urine volume and sodium excretion in rats at i. v. doses of 1000 and 2000 mg/kg. Furosemide-induced saluresis was little influenced by CS-1170.

CS-1170 gave no significant influence on isolated phrenic nerve-muscle preparation, carrageenin edema, blood sugar level, blood clotting time and platelet aggregation and showed no antitussive, hemolytic and local anesthetic effects.

As shown above, significant pharmacological actions of CS-1170 were observed only at 800 mg/kg i. v. or more but not at 400 mg/kg, which would be assumed 20 to 40 times as that of the single clinical dose. This suggests that CS-1170 would not cause any adverse effects clinically.